

手指潰瘍の治療効果を有することが示唆された。現在、我々は医師主導治験（ランダム化2重盲検試験）を行っており、今後の詳細な臨床研究の蓄積によって適応拡大が望まれる。

### 32. モデルマウスを用いた本態性振戦発症機序の解明

細井 延武<sup>1</sup>, 柴崎 貢志<sup>2</sup>, 今野 歩<sup>1</sup>  
村松 慎一<sup>3</sup>, 石崎 泰樹<sup>2</sup>, 平井 宏和<sup>1</sup>  
古市 貞一<sup>4</sup>, 定方 哲史<sup>5</sup>

- (1 群馬大院・医・脳神経再生医学)
- (2 群馬大院・医・分子細胞生物学)
- (3 自治医科大学 地域医療学センター)
- (4 東京理科大学理工学部応用生物科学科  
分子神経科学研究室)
- (5 群馬大院・医・教育研究支援センター)

【背景と目的】 不随意的震えを起こす疾患である本態性振戦は65歳以上の有病率が5-14%と高い。老人の代名詞とも言うべき疾患であるが、未だその発症メカニズムは解明されていない。GTP結合タンパク質であるARFタンパク質はクラスI (ARF1, 2, 3), クラスII (ARF4, ARF5), クラスIII (ARF6) の3種に分類される。ARF4およびARF5の遺伝子欠失(KO)マウスを作製したところ、ARF4(+/-)かつARF5(-/-)マウス(以下、クラスII ARF KOマウス)は体の震えを示した。私は脳の機能破綻と振戦の関係について明らかにすることを目的とし、以下の研究を行った。【材料と方法】 脳波測定のための電極はマウス大脳皮質に埋め込み、基準電極は小脳に埋め込んだ。また、筋電図測定のための電極は頸部に埋め込んだ。小脳スライスは250~300μmの厚みで作製し、電気生理学的解析に用いた。アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター作製については、C末側にhemagglutinin (HA) タグを付したARF5遺伝子をL7プロモーター遺伝子の下流につなげ、AAV9を作製した。【結果】 クラスII ARF KOマウスの振戦に対する薬の効果を首振り頻度にて評価を行った。ヒト本態性振戦の患者に使われるpropranolol, gabapentinは効果を示した。一方、パーキンソン病患者に処方されるL-DOPAやミオクロノスτέんかん患者に処方されるvalproateは効果を示さなかった。自由行動が可能な覚醒下において、脳波と筋電図の測定を行った。野生型マウスとクラスII ARF KOマウスの間において、非動時には違いは見られなかったが、活動時においてKOマウスで異常な脳波が見られた。小脳スライスを用いて電気生理学的な解析を行った結果、プルキンエ細胞の活動電位の発生が、クラスII ARF KOマウスにおいて落ちていることが明らかになった。免疫組織染色によりNaチャンネルの局在について検討を行った結果、Nav1.6チャンネルの軸索起始部における局在が消失していることが示された。小脳プルキンエ細胞特異的にクラスII ARFタンパク質を発現するAAVベクターによりレスキューを行った

マウスは、振戦の低減を示した。また、Nav1.6の軸索起始部への局在も観察された。【考察と結語】 これらの結果から、小脳プルキンエ細胞におけるクラスII ARFタンパク質の欠失により電位依存性NaチャンネルであるNav1.6の軸索起始部における局在のみが消失し、小脳プルキンエ細胞の活動電位の発生に異常が起き、振戦の原因となることが示された。ARFタンパク質は膜輸送に関与していると考えられている。過去にはクラスII ARFタンパク質がエンドソームの形質膜との融合に関与することを示している論文もある。一方、Navチャンネルは、いったん細胞体の形質膜に輸送された後、エンドソームを経て、軸索へ運ばれるということを示唆している論文もある。我々はクラスII ARFタンパク質がエンドソームの輸送に関与することで、Nav1.6が軸索起始部へ輸送されるのではないかと考え、今後詳細なメカニズムを検討する予定である。

### 33. マウス CNS における AAV-PHP.B の中和抗体と遺伝子発現の検討

篠原洋一郎<sup>1,2</sup>, 今野 歩<sup>1</sup>, 諏訪 絢也<sup>3</sup>  
廣村 桂樹<sup>3</sup>, 秋山 英雄<sup>2</sup>, 平井 宏和<sup>1</sup>  
(1 群馬大院・医・脳神経再生医学)  
(2 群馬大院・医・眼科学)  
(3 群馬大院・医・腎臓・リウマチ内科学)

【背景と目的】 AAV-PHP.Bは、静脈注射で成体マウスの血液脳関門を透過し、中枢神経系(CNS)へ効率的かつ広範囲に遺伝子導入することができるAAV9のカプシドバリエーションである。静脈経路でウイルスベクターを投与した場合の最大の問題点は中和抗体(NAb)産生であり、一般的に2回目の遺伝子導入に用いることができない。AAV-PHP.Bに対するNAbと遺伝子発現の関係については報告されていない。今回、我々はAAV-PHP.Bをマウスに静脈注射した時の、NAb産生と脳における遺伝子発現の経時変化を検討したので報告する。【材料と方法】 野生型の生体マウス(4~5週齢)にAAV-PHP.Bを静脈注射し、投与後0~7日の各時点でマウス血清を回収、ELISA法でNAbを測定しNAb産生の時間経過を明らかにした。次に、アストロサイト特異的GFAPプロモーター制御下で赤色蛍光タンパク質(mCherry)を発現するAAV-PHP.B (GFAP-mCherry)を生体マウスに静脈注射し、マウスにNAb産生を誘導した。初回ウイルス投与後0~7日間隔を空けて、神経細胞特異的NSEプロモーター制御下で緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現するAAV-PHP.B (NSE-GFP)を静脈注射した。1回目の静脈注射によるNAb産生が2回目のウイルス静脈投与による遺伝子発現に与える影響を、2回目の投与後2週間で脳の遺伝子発現を観察することで明らかにした。【結果】 AAV-PHP.Bに対するNAbはAAV-PHP.B投与後2日で検出され、時間経過で急激に増加した。また、GFAP-mCherry投与後に間隔を空けてNSE-GFPを投与する実験では、コントロール(0日)と

比較して 1 日間隔を空けると GFP 発現が減少し始め、7 日間隔を空けると完全に GFP 発現が消失した。しかし、GFAP-mCherry を静脈投与後 7 日経過した（すなわち十分に NAb が産生した段階の）マウスに、NSE-GFP のウイルスを直接小脳実質に投与すると GFP を発現した。【考察と結語】 AAV-PHP.B は静脈注射後 1 日目から徐々に中和抗体を産生し始め、1 週間たつと 2 回目のウイルス静脈投与による遺伝子発現は完全に消失した。しかし、AAV-PHP.B を直接脳に投与することで中和抗体による免疫を回避して、遺伝子発現できることが明らかとなった。

#### 34. 口腔に発生した紡錘細胞癌の臨床病理学的検討

山口 高広, 小川 将, 清水 崇寛

牧口 貴哉, 横尾 聡

(群馬大院・医・口腔顎顔面外科学・

形成外科学)

【背景と目的】 紡錘細胞癌 (spindle cell carcinoma: 以下 SpCC) は組織学的に扁平上皮癌の組織像と紡錘形細胞を主とする肉腫様増殖像からなるまれな腫瘍である。扁平上皮癌の一亜型として分類されているが高悪性度の腫瘍であり、一般に予後は不良である。今回、われわれは口腔に発生した SpCC の 2 例を経験したので pool 解析による臨床病理学的検討を加えて報告する。【材料と方法】 【検討①】 口腔に発生した SpCC の予後予測因子について pool 解析を行った。対象は渉猟可能であった本邦における口腔領域の SpCC のうち外科的切除が施行された 33 例とした。対象症例における予後と臨床的因子との関連について統計学的検討を行った。Kaplan-Meier 法にて算出した累積疾患特異的生存率について log-rank 検定を用いて解析を行った。また多変量解析では Cox 比例ハザードモデルを用いた。

【検討②】 自験例に対して免疫組織学的染色を行い、本腫瘍と上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal-transition: 以下 EMT) との関連を検討した。【結果】 pool 解析の結果、本邦例の外科治療における 2 年生存率は 56.9%であった。また局所再発の有無および頸部リンパ節転移の有無が有意な予後不良因子であった。また自験例では扁平上皮癌様部から肉腫様部に移行するにつれて、E-cadherin の発現低下および vimentin の発現上昇を認めており EMT の関与が示唆された。【考察と結語】 口腔に発生した SpCC の 2 例を経験した。統合解析の結果、本腫瘍では十分な安全域を設けた切除と術後早期の画像検査および予防的頸部郭清術を考慮すべきと考えられた。また免疫染色にて本腫瘍の悪性度と EMT との関与が示唆された。

#### 35. 脳波を用いたマインドフルネス瞑想中のニューロフィードバックに関する研究

寺内 萌絵<sup>1</sup>, 豊村 暁<sup>2</sup>, 星野 孝文<sup>2</sup>

高橋 徹<sup>3</sup>, 成島 響子<sup>4</sup>, 廣神 佑香<sup>4</sup>

灰谷 知純<sup>5</sup>, 三井 真一<sup>2</sup>, 熊野 宏昭<sup>3</sup>

(1 群馬大医・保健学科)

(2 群馬大院・保健学研究所)

(3 早稲田大学大学院人間科学研究科)

(4 群馬大医・医学科)

(5 国立障害者リハビリテーション

センター研究所)

【背景と目的】 目の前の課題以外の感情や思考に注意が囚われるマインドワンダリング状態が我々の生活の約 30~50%に存在し、幸福度の低さとも関連すると言われている。近年、「意図的に今この瞬間に、価値判断をすることなく注意を向けること」を指すマインドフルネスを用いた瞑想法が心の健康の向上へ応用されている。しかし、瞑想初心者には注意の維持が容易ではなく、マインドワンダリングに陥りやすい。本研究では、数息観を行う際の脳波をオンラインで解析し、マインドワンダリングに陥ったと思われるタイミングで音により注意を促す手法について検討した。

【材料と方法】 条件はニューロフィードバック (NF) 群、対照群としてランダム音提示 (RS) および音提示無し (NS) 群の 3 つである。参加者は呼吸に注意を向けながら、呼吸を 1 から 10 まで数える数息観を行い、呼吸を数えていないことに気付いたらボタンを押す課題を、8 分×4 セット行った。Pz, C3, C4, A1, A2, FpZ からサンプリング周波数 1,000 Hz で脳波を取得し、接触インピーダンスは 5 kΩ以下を保った。NF 群では LabVIEW 上でオンラインで 2 秒毎にスペクトル解析を行い、α波、θ波、δ波の過去 20 秒の平均値が、実験開始 1 分間の平均値±標準偏差を逸脱した場合に純音を 2 回提示し、呼吸への注意を促した。得られた脳波の周波数分析を 2,048 ms 毎に行った。【結果】 現在までの結果では、ボタン押し回数の平均値は、NF 群において高く、対照群では低かった。ボタン押し回数と音提示回数の一致率は、NF 群の方が RS 群より高い傾向にあった。一方、ボタン押しがあった場合の音の提示率は NF 群と RS 群で変わらなかった。脳波は α波の振幅が NF 群において大きい傾向にあり、δ波の振幅が対照群 (RS 群および NS 群) で大きい傾向にあった。【考察と結語】 NF 群においてボタン押し回数が高かったことと、α波の振幅が高い傾向にあったことから、脳波によるマインドワンダリングの状態推定と音提示により、被験者がよりマインドワンダリングの状態に気づき、注意を持続できる手法として、効果がある可能性がある。